

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problems Mailbox.**

---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



4  
SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
CONFÉDÉRATION SUISSE  
CONFEDERAZIONE SVIZZERA

REC'D 15 AUG 2000

WIPO

PCT

*EP00/06647*

**PRIORITY DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

**Bescheinigung**

Die beiliegenden Akten stimmen mit den ursprünglichen technischen Unterlagen des auf der nächsten Seite bezeichneten Patentgesuches für die Schweiz und Liechtenstein überein. Die Schweiz und das Fürstentum Liechtenstein bilden ein einheitliches Schutzgebiet. Der Schutz kann deshalb nur für beide Länder gemeinsam beantragt werden.

**Attestation**

Les documents ci-joints sont conformes aux pièces techniques originales de la demande de brevet pour la Suisse et le Liechtenstein spécifiée à la page suivante. La Suisse et la Principauté de Liechtenstein constituent un territoire unitaire de protection. La protection ne peut donc être revendiquée que pour l'ensemble des deux Etats.

**Attestazione**

Gli uniti documenti sono conformi agli atti tecnici originali della domanda di brevetto per la Svizzera e il Liechtenstein specificata nella pagina seguente. La Svizzera e il Principato di Liechtenstein formano un unico territorio di protezione. La protezione può dunque essere rivendicata solamente per l'insieme dei due Stati.

Bern, 10. Mai 2000

Eidgenössisches Institut für Geistiges Eigentum  
Institut Fédéral de la Propriété Intellectuelle  
Istituto Federale della Proprietà Intellettuale

Patentverfahren  
Administration des brevets  
Amministrazione dei brevetti

*Rolf Hofstetter*  
Rolf Hofstetter

de la proprietate intelectuală

**Patentgesuch Nr. 1999 1300/99**

HINTERLEGUNGSBESCHEINIGUNG (Art. 46 Abs. 5 PatV)

Das Eidgenössische Institut für Geistiges Eigentum bescheinigt den Eingang des unten näher bezeichneten schweizerischen Patentgesuches.

Titel:  
Verfahren zur Trennung optischer Isomerer.

Patentbewerber:  
Eprova AG  
Im Laternenacker 5  
8200 Schaffhausen

Anmeldedatum: 14.07.1999

---

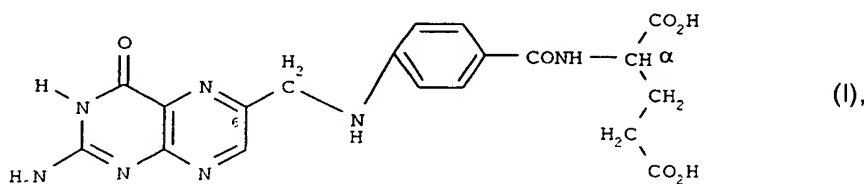
Voraussichtliche Klassen: C07D

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Verfahren zur Trennung optischer Isomere

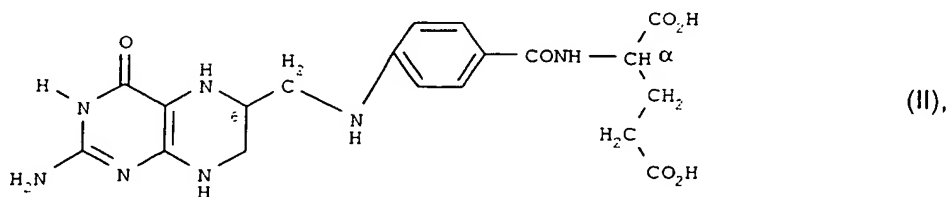
Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung und Anreicherung von (6S,αS)- oder (6S,αR)-Tetrahydrofolsäureestersalzen und -Tetrahydrofolsäure, indem man in einem organischen Lösungsmittel äquimolare oder angereicherte Mischungen von Diastereomeren von Additionssalzen von Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren herstellt oder löst, anschliessend wenigstens einmal kristallisiert, und diese gegebenenfalls zu (6S,αS)- beziehungsweise (6S,αR)-Tetrahydrofolsäure hydrolysiert und diese als freie Säure kristallisiert oder in Form ihrer Salze isoliert. Aus den Mutterlaugen können die Additionssalze der (6R,αS)- beziehungsweise (6R,αR)-Tetrahydrofolsäureester mit den entsprechenden Sulfonsäuren isoliert und durch Hydrolyse die entsprechenden Tetrahydrofolsäuren oder deren Salze erhalten werden.

Folsäure entspricht der Formel I,



wobei das asymmetrische α-C-Atom im Glutaminsäurerest in der S-Konfiguration (αS) oder in der R-Konfiguration (αR) vorliegen kann. Die Enantiomeren der Folsäure werden nachfolgend als (αS)-Folsäure und (αR)-Folsäure bezeichnet. Das gleiche gilt für die Folsäureester und ihre Derivate. Sie werden als (αS)-Folsäureester und (αR)-Folsäureester bezeichnet. Die natürlich vorkommende Folsäure entspricht der (αS)-Folsäure.

Tetrahydrofolsäure entspricht der Formel II,



wobei das asymmetrische  $\alpha$ -C-Atom im Glutaminsäurerest in der S-Konfiguration ( $\alpha$ S) oder in der R-Konfiguration ( $\alpha$ R) vorliegen kann und das asymmetrische C-Atom 6 im Tetrahydropterinrest in der (6R)- oder S-Konfiguration (6S) vorliegen kann. Die Diastereomeren der Tetrahydrofolsäure werden nachfolgend als (6S, $\alpha$ S)-, (6S, $\alpha$ R)-, (6R, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäure bezeichnet. Das gleiche gilt für die Tetrahydrofolsäureester und ihre Derivate. Sie werden als (6S, $\alpha$ S)-, (6S, $\alpha$ R)-, (6R, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäureester bezeichnet. Die natürlich vorkommende Tetrahydrofolsäure entspricht der (6S, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäure.

Im folgenden beinhaltet die Bezeichnung Folsäure, Folsäureester und Folsäureestersalze falls nicht anderweitig bezeichnet immer die beiden Enantiomeren ( $\alpha$ S) und ( $\alpha$ R) und die Bezeichnung Tetrahydrofolsäure, Tetrahydrofolsäureester und Tetrahydrofolsäureestersalze alle möglichen Diastereomeren.

Tetrahydrofolsäure hat in Form von 5-Formyl- oder 5-Methylderivaten und ihren physiologisch verträglichen Salzen eine breite therapeutische Anwendung gefunden. Es ist seit langem bekannt, dass die biologische Aktivität der natürlich vorkommenden Diastereomeren der reduzierten Folate, z.B. der (6S, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäure, bei weitem am stärksten ist. Es ist daher zweckmässig, therapeutische Präparate bereitzustellen, in dem nur die aktivste Form enthalten oder diese zumindest hoch angereichert ist.

Tetrahydrofolsäure wird industriell im allgemeinen durch heterogene Hydrierung der beiden Imingruppen im Pteringerüst von ( $\alpha$ S)-Folsäure hergestellt, wobei man üblicherweise ein äquimolares Gemisch aus (6S, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäure erhält. Das äquimolare Gemisch kann für pharmazeutische Zubereitungen verwendet werden. Man kann aber auch zuvor das gewünschte (6S, $\alpha$ S)-Diastereomere der Tetrahydrofolsäure durch fraktionierte Kristallisation anreichern oder in reiner Form gewinnen, wofür verschiedene Verfahren bekannt sind, siehe zum Beispiel EP-A-0 495 204.

Das in der EP-A-0 495 204 beschriebene Verfahren verwendet die äquimolaren Mischungen von (6S, $\alpha$ S)- beziehungsweise (6S, $\alpha$ R)-Diastereomeren der Tetrahydrofolsäuresul-



fonsäuresalze, die in Wasser gelöst und dann kristallisiert werden. Dieses Verfahren führt zur Anreicherung des gewünschten (6S,αS)-Diastereomeren, wobei man bereits im ersten Kristallisationsschritt sehr hohe Anreicherungen erzielen (bis etwa 95 %) und durch eine weitere fraktionierte Kristallisation reine (6S,αS)-Tetrahydrofolsäure erhalten kann. Dieses Verfahren kann unter anderem aus ökonomischer Sicht insofern nicht überzeugen, als die zur Salzbildung verwendeten Sulfonsäuren nur mit hohem Aufwand aus wässrigen Mutterlaugen abtrennbar sind, und daher die Entsorgung grosser Volumina sulfonsäurehaltiger Mutterlaugen vorgenommen werden muss, was wirtschaftlich ungünstig ist.

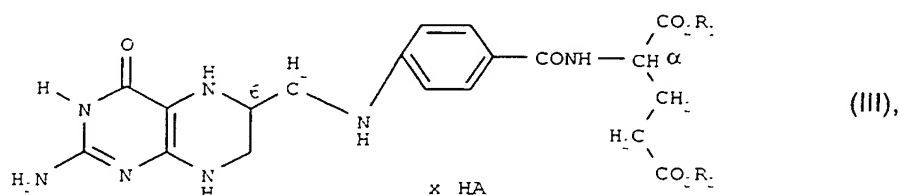
In der CH-A-686 369 wird die Herstellung von stabiler kristalliner (6S,αS)- und (6R,αS)-Tetrahydrofolsäure durch Kristallisation aus einem wässrigen Medium bei bestimmten pH-Werten beschrieben. Die Anreicherungen bei den fraktionierten Kristallisationen sind jedoch so niedrig, dass mehrere Schritte für eine Anreicherung des gewünschten Diastereomeren auf über 99,5 % nötig sind.

Es wurde nun überraschend gefunden, dass sich aromatische Sulfonsäuresalze (Additionssalze) der Tetrahydrofolsäureester hervorragend zur Herstellung von optisch reinen Diastereomeren der Tetrahydrofolsäure eignen, da nur die Additionssalze des (6S,αS)- oder (6S,αR)-Diastereomeren aus organischen Lösungsmitteln auskristallisieren. Es wird schon bei einer ersten Kristallisation eine ungewöhnlich hohe Anreicherung des (6S,αS)- beziehungsweise (6S,αR)-Diastereomeren oder deren Mischungen im Kristallisat, und des (6R,αS)- beziehungsweise (6R,αR)-Diastereomeren oder deren Mischungen in der Mutterlauge erzielt, die über 99% liegen kann. Mit einer weiteren Kristallisation kann man dann meistens die optisch reinen Diastereomeren erhalten.

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung und Anreicherung von (6S,αS)- oder (6S,αR)-Tetrahydrofolsäureestersalzen und -Tetrahydrofolsäure, das dadurch gekennzeichnet ist, dass man in organischen Lösungsmitteln äquimolare oder angereicherte Mischungen von Diastereomeren von Additionssalze von Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren herstellt oder löst, anschliessend wenigstens einmal kristallisiert, und dann das Kristallisat gegebenenfalls zu (6S,αS)- oder (6S,αR)-Tetrahydrofolsäure hydrolysiert, diese als freie Säure kristallisiert oder in Form eines Salzes isoliert.

Wenigstens einmal Kristallisieren bedeutet im Rahmen der Erfindung eine fraktionierte Kristallisation bis zur gewünschten Reinheit. Die Anzahl der Kristallisationsschritte richtet sich hierbei hauptsächlich nach dem Gehalt des oder der gewünschten Diastereomeren im Ausgangsprodukt.

Die Additionssalze der Tetrahydrofolsäureester können der Formel III entsprechen und umfassen die (6S,αS)-, (6S,αR)-, (6R,αS)- und (6R,αR)-Diastereomeren,



worin  $R_1$  oder  $R_2$  H sind, und eines von  $R_1$  oder  $R_2$ , oder beide  $R_1$  und  $R_2$  einen monovalenten Kohlenwasserstoffrest oder einen über ein C-Atom gebundenen Heterokohlenwasserstoffrest mit Heteroatomen ausgewählt aus der Gruppe -O-, -S- und -N- darstellen, HA für eine aromatische Sulfonsäure steht,

und x eine ganze Zahl von 1 bis 6 oder eine gebrochene Zahl zwischen 0 bis 6 bedeutet.

Bevorzugt stellen  $R_1$  und  $R_2$  einen Kohlenwasserstoffrest dar. Bei  $R_1$  und  $R_2$  als Kohlenwasserstoffrest kann es sich um aliphatische Reste mit 1 bis 20, bevorzugt 1 bis 12, besonders bevorzugt 1 bis 8, und insbesondere bevorzugt 1 bis 4 C-Atome, um cycloaliphatische oder cycloaliphatisch-aliphatische Reste mit 3 bis 8 Ringkohlenstoffatomen und 1 bis 6 C-Atomen im aliphatischen Rest, um aromatische Kohlenwasserstoffreste mit 6 bis 14 C-Atomen, besonders bevorzugt 6 bis 10 C-Atomen, oder um aromatisch-aliphatische Reste mit 7 bis 15 C-Atomen, besonders bevorzugt 7 bis 10 C-Atomen handeln.

Bei dem Heterokohlenwasserstoffrest kann es sich um Heteroalkyl mit 2 bis 16 C-Atomen, bevorzugt 2 bis 10 C-Atomen, und besonders bevorzugt 2 bis 6 C-Atomen, um heterocycloaliphatische Reste mit 3 bis 8, bevorzugt 5 oder 6 Ringgliedern, um heterocycloaliphatisch-aliphatische Reste mit 3 bis 8, bevorzugt 5 oder 6 Ringgliedern, und 1 bis 6, bevorzugt 1 bis 4 C-Atomen im aliphatischen Rest, um heteroaromatische Reste mit bevorzugt 4 bis

13 C-Atomen, und besonders bevorzugt 4 bis 9 C-Atomen und wenigstens einem Heteroatom, und um heteroaromatisch-aliphatische Reste mit bevorzugt 4 bis 13 C-Atomen, und besonders bevorzugt 4 bis 9 C-Atomen und wenigstens einem Heteroatom, und 1 bis 6, bevorzugt 1 bis 4 C-Atomen im aliphatischen Rest handeln, wobei die Heteroreste wenigstens ein Heteroatom ausgewählt aus der Gruppe -O-, -S- und -N- und bevorzugt -O- und -N- enthalten.

Die Kohlenwasserstoffreste können zum Beispiel ausgewählt sein aus der Gruppe lineares und verzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>-Alkyl, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>- und bevorzugt C<sub>4</sub>-C<sub>7</sub>-Cycloalkyl, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-Cycloalkyl-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl und bevorzugt C<sub>4</sub>-C<sub>7</sub>-Cycloalkyl-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl oder C<sub>7</sub>-C<sub>12</sub>-Aralkyl.

Die Heterokohlenwasserstoffreste können zum Beispiel ausgewählt sein aus der Gruppe C<sub>2</sub>-C<sub>16</sub>-Heteroalkyl, C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>- und bevorzugt C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub>-Heterocycloalkyl, C<sub>4</sub>-C<sub>7</sub>- und bevorzugt C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub>-Heterocycloalkyl-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>4</sub>-C<sub>9</sub>- und bevorzugt C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub>-Heteroaryl, und C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub>- und bevorzugt C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>-Heteroaralkyl, wobei die Heteroreste 1 bis 3 und bevorzugt 1 oder 2 Heteroatome aus der Gruppe -O- und -N- enthalten.

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können lineares oder verzweigtes Alkyl sein, das bevorzugt 1 bis 12, bevorzugter 1 bis 8, und besonders bevorzugt 1 bis 4 C-Atome enthält. Beispiele sind Methyl, Ethyl, und die Isomeren von Propyl, Butyl, Pentyl, Hexyl, Heptyl, Octyl, Decyl, Dodecyl, Tetradecyl, Hexadecyl, Octadecyl und Eicosyl. Bevorzugt ist das Alkyl linear und bevorzugt ist das Alkyl Methyl, Ethyl, n-Propyl und n-Butyl. Ganz besonders bevorzugt steht Alkyl für Methyl.

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> enthalten als Cycloalkyl bevorzugt 4 bis 7 und besonders bevorzugt 5 oder 6 Ringkohlenstoffatome. Beispiele für Cycloalkyl sind Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl, Cycloheptyl und Cyclooctyl. Besonders bevorzugt ist Cyclohexyl.

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> enthalten als Cycloalkyl-alkyl bevorzugt 4 bis 7 und besonders bevorzugt 5 oder 6 Ringkohlenstoffatome, und bevorzugt 1 bis 4 und besonders bevorzugt 1 oder 2 C-Atome im aliphatischen Rest. Beispiele für Cycloalkyl-alkyl sind Cyclopropylmethyl oder -ethyl, Cyclobutylmethyl oder -propyl, Cyclopentylmethyl oder -ethyl, Cyclohexylmethyl oder -ethyl, Cycloheptylmethyl und Cyclooctylmethyl. Besonders bevorzugt ist Cyclohexylmethyl oder -ethyl.

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können als Aryl für Naphthyl und bevorzugt für Phenyl stehen. R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> sind als Aralkyl bevorzugt Phenylalkyl mit bevorzugt 1 bis 4 C-Atomen im Alkyl. Beispiele sind Benzyl und β-Phenylethyl.

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können als Heteroalkyl zum Beispiel C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl-X<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl sein, worin X<sub>1</sub> für O oder NC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl steht. Beispiele sind Methoxyethyl und Ethoxyethyl.

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können als Heterocycloalkyl zum Beispiel Pyrrolidinyl, Piperidinyl, Morpholinyl, Tetrahydropyranyl oder Piperazinyl sein.

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können als Heterocycloalkyl-alkyl zum Beispiel Pyrrolidinylmethyl oder -ethyl, Piperidinylmethyl oder -ethyl, Morpholinylmethyl oder ethyl, Tetrahydropyranyl-methyl oder ethyl oder Piperazinylmethyl oder -ethyl sein.

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können als Heteroaryl zum Beispiel Thiophenyl, Furanyl, Pyran-yl, Pyrrolyl, Imidazolyl, Pyridinyl, Pyrimidinyl, Pyrazinyl, Indolyl, Chinolinyl, Oxazolyl oder Isooxazolyl sein.

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können als Heteroaralkyl zum Beispiel Furanylmethyl oder -ethyl, Pyran-ylmethyl oder -ethyl, Pyrrolylmethyl oder -ethyl, Imidazolylmethyl oder -ethyl, Pyridinylmethyl oder -ethyl, Pyrimidinylmethyl oder -ethyl, Pyrazinylmethyl oder -ethyl, Indolylmethyl oder -ethyl, Chinolinylmethyl oder -ethyl sein.

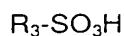
---

~~Eine bevorzugte Gruppe von Verbindungen der Formel III sind solche, worin R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub>~~  
unabhängig voneinander C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, C<sub>5</sub>- oder C<sub>6</sub>-Cycloalkyl, Phenyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkylphenyl, Benzyl oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkylbenzyl darstellen. Bevorzugt sind R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> gleiche Reste. Ganz besonders bevorzugt stellen R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl dar, zum Beispiel Methyl oder Ethyl.

In Formel III bedeutet x bevorzugt eine ganze oder gebrochene Zahl von 0,5 bis 4, besonders bevorzugt eine ganze oder gebrochene Zahl von 0,5 bis 3, und ganz besonders bevorzugt eine ganze oder gebrochene Zahl von 0,5 bis 2.

Die aromatischen Sulfonsäuren können eine bis drei, bevorzugt ein oder zwei, und besonders bevorzugt eine Sulfonsäuregruppe enthalten. Bevorzugt sind Sulfonsäuren von Kohlenwasserstoffaromaten. Die aromatischen Sulfonsäuren können unsubstituiert oder mit Halogen, linearem oder verzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-Alkyl, bevorzugt C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, linearem oder verzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-Alkoxy, bevorzugt C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkoxy, und linearem oder verzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-Halogenalkyl, bevorzugt C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Halogenalkyl substituiert sein. Einige Beispiele für Substituenten sind Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl, Methoxy, Ethoxy, Trifluor- oder Trichlormethyl, Fluor und Chlor. Bevorzugt enthält der aromatische Rest einen Substituenten. Unter den aromatischen Gruppen sind Phenyl und Naphthyl bevorzugt.

Die aromatischen Sulfonsäuren entsprechen besonders bevorzugt der Formel IV,



(IV),

worin R<sub>3</sub> unsubstituiertes oder mit F, Cl, Br, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Halogenalkyl oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkoxy substituiertes Phenyl darstellt. Einige spezifische Beispiele für R<sub>3</sub> sind Phenyl, Methylphenyl, Fluorphenyl, Chlorphenyl, Trichlormethylphenyl und Trifluormethylphenyl.

Besonders bevorzugte Verbindungen der Formel III sind solche, worin R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> je Methyl darstellen, x für 1 oder 2 oder für eine gebrochene Zahl zwischen 0,5 und 2 steht, und HA Phenyl-, Toluyl-, Fluor-, Chlor- oder Trifluormethylphenyl bedeutet. Substituierte Reste sind bevorzugt p-Toluyl-, p-Fluor-, p-Chlor- oder p-Trifluormethylphenyl.

Ganz besonders bevorzugte Verbindungen der Formel III sind solche, worin R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> je Methyl darstellen, x für 1 oder 2 oder für eine gebrochene Zahl zwischen 0,5 und 2 steht, und HA Phenyl- oder p-Toluylsulfonsäure bedeutet.

Die erfindungsgemäss verwendeten Additionssalze der Tetrahydrofolsäureester sind neu und können zum Beispiel durch Veresterung von Tetrahydrofolsäure in Gegenwart von Sulfonsäuren, oder durch Veresterung von Tetrahydrofolsäuresalzen in einem polaren organischen Lösungsmittel hergestellt werden.

Man kann auch von Folsäure ausgehen, und diese in an sich bekannter Weise in Gegenwart von heterogenen oder homogenen Hydrierkatalysatoren mit Wasserstoff hydrieren.

Die Hydrierung kann auch diastereoselektiv geführt werden, wenn man in einem polaren Reaktionsmedium, zum Beispiel einem wässrigen oder alkoholischen Reaktionsmedium, in Gegenwart von im Reaktionsmedium löslichen chiralen Hydrierkatalysatoren mit Wasserstoff hydriert. Geeignete Hydrierkatalysatoren sind bekannt. Es handelt sich insbesondere um Metallkomplexe von Rh, Ir oder Ru mit ditertiären Diphosphinen, wie sie zum Beispiel von H. Brunner und W. Zettlmeier, Handbook of Enantioselective Catalysis, Vol. II: Ligand References, VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim (1993), beschrieben werden. Die erhaltene Tetrahydrofolsäure kann in an sich bekannter Weise anschliessend verestert werden. Wenn die Hydrierung in einem Alkohol als Lösungsmittel und in Gegenwart einer Sulfonsäure unter Reaktionsbedingungen erfolgt, die zu einer Veresterung der Folsäure führen, gelangt man direkt zu den Additionssalzen aus den entsprechenden Tetrahydrofolsäureestern und Sulfonsäuren.

Man kann aber auch von Folsäureestern ausgehen, und diese in an sich bekannter Weise in Gegenwart von heterogenen oder homogenen Hydrierkatalysatoren mit Wasserstoff hydrieren. Die Hydrierung kann auch diastereoselektiv geführt werden, wenn man in einem polaren Reaktionsmedium, zum Beispiel einem alkoholischen Reaktionsmedium, in Gegenwart von im Reaktionsmedium löslichen chiralen Hydrierkatalysatoren mit Wasserstoff hydriert. Die erhaltenen Tetrahydrofolsäureester können anschliessend mit Sulfonsäuren in Additionssalze übergeführt werden. Die Hydrierung kann wie zuvor beschrieben mit in Alkoholen löslichen Metallkomplexen aus Ir, Rh oder Ru und ditertiären Diphosphinen als Hydrierkatalysatoren durchgeführt werden. Wenn die Hydrierung in einem Alkohol als Lösungsmittel und in Gegenwart einer Sulfonsäure durchgeführt wird, gelangt man direkt zu den Additionssalzen aus den entsprechenden Tetrahydrofolsäureestern und Sulfonsäuren.

---

~~Verwendet man für die Hydrierung Additionssalze aus Folsäureestern mit Sulfonsäuren, so gelangt man ebenfalls direkt zu den Additionssalzen von Tetrahydrofolsäureestern und Sulfonsäuren.~~

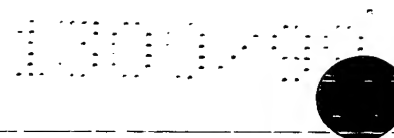
Unter äquimolaren oder angereicherten Mischungen werden im Rahmen der Erfindung Mischungen verstanden, die entweder gleiche Mengen von Diastereomeren mit (6S)- und (6R)-Konfiguration oder einen Überschuss eines Diastereomeren mit (6S)- oder (6R)-Konfiguration enthalten. Man kann auch Mischungen von Diastereomeren (6S)- und (6R)-Konfiguration einsetzen, die entweder ( $\alpha$ S)- oder ( $\alpha$ R)-Konfiguration aufweisen, oder Mischungen von Diastereomerenpaaren mit (6S)- und (6R)-Konfiguration und unterschiedlicher

Konfiguration am  $\alpha$ -C-Atom. Die Mischungen können das (6S, $\alpha$ S)- beziehungsweise (6S, $\alpha$ R)-Diastereomere in einer Menge von wenigstens 5, bevorzugt wenigstens 20, und besonders bevorzugt wenigstens 30 Prozent und bis zu etwa 75 Prozent oder mehr enthalten.

Geeignete organische Lösungsmittel sind polare organische Lösungsmittel, die bevorzugt wenigstens 1 g Additionssalz eines Tetrahydrofolsäureesters pro Liter Lösungsmittel bei Siedetemperatur zu lösen vermögen. Beispiele für Lösungsmittel sind Halogenkohlenwasserstoff (Methylenchlorid, Chloroform, Tetrachlorethan, Chlorbenzol); Ether (Diethylether, Dibutylether, Tetrahydrofuran, Dioxan, Ethylenglykoldimethyl- oder diethylether); Carbonsäureester und Lactone (Essigsäuremethylester, Essigsäureethylester, Propionsäuremethylester, Valerolacton); N,N-substituierte Carbonsäureamide und Lactame (Dimethylformamid, Dimethylacetamid, N-Methylpyrrolidon); Ketone (Aceton, Methylisobutylketon, Cyclohexanon); Sulfoxide und Sulfone (Dimethylsulfoxid, Dimethylsulfon, Tetramethylensulfon); und Alkohole (Methanol, Ethanol, n- oder i-Propanol, n-, i- oder t-Butanol, Pentanol, Hexanol, Cyclohexanol, Cyclohexandiol, Hydroxymethyl- oder Dihydroxymethylcyclohexan, Benzylalkohol, Ethylenglykol, Diethylenglykol, Propandiol, Butandiol, Ethylenglykolmonomethyl- oder monoethylether, und Diethylenglykolmonomethyl- oder monoethylether. Bevorzugt sind Ethanol und besonders Methanol. Es können auch Gemische von wenigstens zwei Lösungsmitteln verwendet werden.

Besonders bevorzugt werden Alkohole oder Mischungen aus Alkoholen mit wenigstens einem weiteren alkoholmischbaren Lösungsmittel verwendet. Der Anteil an einem Alkohol beträgt bevorzugt wenigstens 30, besonders bevorzugt wenigstens 50 und insbesondere wenigstens 70 Volumenprozent. Ganz besonders bevorzugt wird nur Alkohol, zum Beispiel Methanol, oder Mischungen von Alkohol mit alkoholmischbaren Lösungsmitteln, zum Beispiel Methanol mit Ethern verwendet.

Im einzelnen kann das Verfahren zum Beispiel so durchgeführt werden, dass man äquimolare oder angereicherte Mischungen von Diastereomeren aus Additionssalzen von Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren mit einem Lösungsmittel mischt und anschliessend das Gemisch zur Lösung der Additionssalze von Tetrahydrofolsäureestern und aromatischen Sulfonsäuren erwärmt. Die Erwärmung kann bis zur Siedetemperatur des



Lösungsmittels vorgenommen werden. Danach kühlt man die Lösung bis höchstens unterhalb des Festpunktes eines Lösungsmittels ab, wobei das (6S,αS)- oder (6S,αR)-Diastereomere oder beide Diastereomeren entweder spontan, oder durch Animpfen mit dem oder den gewünschten Diastereomeren, oder durch Einengen der Lösung auskristallisieren, und dann in üblicher Weise mittels Filtration abgetrennt werden können.

Es hat sich als besonderer Vorteil erwiesen, dass man zur Herstellung oder Anreicherung der Additionssalze von Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren auch direkt die Reaktionslösungen der Hydrierung von Folsäureestern, oder der Hydrierung von Additionssalzen von Folsäureestern und aromatischen Sulfonsäuren verwenden kann.

Nach der ersten Kristallisation wird bereits eine ausserordentlich hohe Anreicherung beobachtet, die zum Beispiel völlig überraschend bis zu über 99% betragen kann. Um die reinen (6S,αS)- oder (6S,αR)-Diastereomeren herzustellen, bedarf es in der Folge nur noch weniger, zum Beispiel bis zu drei, überraschend oft nur noch eines einzigen Kristallisationsschrittes.

Die beobachtete Anreicherung der (6S,αS)- beziehungsweise (6S,αR)-Diastereomeren im Kristallisat ist so hoch und die Kristallisationsfähigkeit dieser Isomeren so ausgezeichnet, dass man das erfindungsgemässe Verfahren sogar zur Isolierung von (6S,αS)- oder (6S,αR)-Diastereomeren aus Mutterlaugen einsetzen kann, die überwiegend (6R,αS)- oder (6R,αR)-Diastereomere enthalten. Die erfindungsgemässe Methode eignet sich hervorragend für Trennverfahren im industriellen Massstab.

Die nach der Trennung erhaltenen Additionssalze von (6S,αS)- oder (6S,αR)-Tetrahydrofolsäureester mit Sulfonsäuren können anschliessend in an sich bekannter Weise hydrolysiert werden, zum Beispiel mit Basen wie NaOH oder KOH, wobei keine Racemisierung am α-C-Atom im Glutaminsäurerest beobachtet wird. Man erhält demnach die entsprechenden (6S,αS)- oder (6S,αR)-Tetrahydrofolsäuren. Diese Tetrahydrofolsäuren können in stabiler Form als freie Säuren durch Kristallisation isoliert werden, wie es zum Beispiel in der CH-A-686 369 beschrieben ist. Durch Zugabe von Säuren, zum Beispiel Salzsäure oder Sulfonsäuren, können die Salze der Tetrahydrofolsäuren ebenfalls kristallisiert und gewünschtenfalls weiter angereichert werden (EP-A-0 495 204).



Die nachfolgenden Beispiele erläutern die Erfindung näher.

Die optische Ausbeute beziehungsweise das Verhältnis von (6S, $\alpha$ S)- zum (6R, $\alpha$ S)-Diastereomeren bzw. des (6S, $\alpha$ R)- zum (6R, $\alpha$ R)-Diastereomeren wird folgendermassen mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie direkt im Kristallisat oder in der Mutterlauge bestimmt:

0,5 mg des Kristallisates oder 15 mg der Mutterlauge werden in 1 ml Lösungsmittel gelöst, welches aus 6,8 g  $\beta$ -Cyclodextrin und 270 ml 37% Formaldehyd in 1000 ml Wasser hergestellt wird. Die Trennung erfolgt mittels einer Säule Nucleosil C-8, 5 mm, 240 x 4 mm der Firma Macherey-Nagel und einem Fließmittel, das folgendermassen hergestellt wird: 6,8 g  $\beta$ -Cyclodextrin werden in einer Mischung aus 8,5 ml Triethylamin, 850 ml Wasser und 150 ml Acetonitril gelöst. Der pH-Wert der Lösung wird durch Zugabe von Essigsäure auf pH = 7,5 eingestellt, und es werden noch 270 ml 37 % Formaldehyd zugegeben. Die Detektion der beiden Diastereomeren erfolgt bei einer Wellenlänge von 300 nm.

Die Herstellung und Anreicherung sowie der Transfer von Lösungen und Suspensionen erfolgt unter Ausschluss von Sauerstoff unter Verwendung von Schutzgasen wie zum Beispiel Stickstoff oder Edelgasen.

#### A) Herstellung von Additionssalzen aus Tetrahydrofolsäureestern und Sulfonsäuren

##### Beispiel A1:

##### a) Herstellung von ( $\alpha$ S)-Folsäuredimethylester-benzolsulfonat

800 g ( $\alpha$ S)-Folsäure-dihydrat (1,68 mmol) werden bei 40 °C in eine Lösung aus 530 g Benzolsulfonsäure (3,35 mmol) und 20 Litern wasserfreiem Methanol unter einer Stickstoffatmosphäre eingetragen. Das Gemisch wird eine halbe Stunde unter Rückfluss erhitzt, abgekühlt und auf ein Volumen von 5 Litern eingeeengt. Das abgeschiedene Produkt wird abgenutscht, mit 1 Liter Methanol gewaschen und im Trockenschrank bei 40 °C und 20 mbar getrocknet. Man erhält 966 g ( $\alpha$ S)-Folsäuredimethylester-benzolsulfonat (1,45 mol, 86 % der theoretischen Ausbeute) Das Produkt enthält 26,2 % Benzolsulfonsäure, 1,67 % Wasser und 2,26 % Methanol.

Die Substanz zersetzt sich oberhalb von 150 °C.

$^1\text{H-NMR}$  in  $\text{DMSO-d}_6$ : 8.78 (1 H, s), 8.46 (2H, bs), 8.32 (1H, d), 7.64-7.68 (m), 7.35-7.40 (m), 6.66 (2H, d), 0.8 (2H, s), 4.39 (1H, m), 3.62 (3H, s), 3.57 (3H, s), 2.42 (2H, m), 1.98-2.11 (2H, m).

b) Herstellung einer Lösung eines (6S, $\alpha$ S)/(6R, $\alpha$ S)-Diastereomerengemisches von Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat

6,72 mg  $[\text{Ir}(\text{COD})\text{Cl}]_2$  (10  $\mu\text{mol}$ ) und 15,57 mg (25  $\mu\text{mol}$ ) R-BINAP werden eingewogen, entgast und in Dichlormethan gelöst. Dichlormethan wird im Hochvakuum abkondensiert und der Rückstand in 5 ml Methanol aufgenommen. 1,25 g ( $\alpha$ S)-Folsäuredimethylester-benzolsulfonat gemäss Beispiel A1a (2 mmol) werden in 25 ml Methanol suspendiert und zum Katalysator gegeben. Die Suspension wird im Stickstoffgegenstrom in einen 100 ml Autoklaven gegeben und so lange hydriert, bis keine Wasserstoffaufnahme mehr erfolgt. COD steht für Cyclooctadien. Das Verhältnis der Diastereomeren (6S, $\alpha$ S):(6R, $\alpha$ S) beträgt 74:26.

c) Herstellung einer Lösung eines (6S, $\alpha$ S)/(6R, $\alpha$ S)-Diastereomerengemisches von Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem Überschuss des (6R, $\alpha$ S)-Diastereomers

6,72 mg  $[\text{Ir}(\text{COD})\text{Cl}]_2$  (10  $\mu\text{mol}$ ) und 13,84 mg (25  $\mu\text{mol}$ ) (2S,4S)-BPPM werden eingewogen, entgast und in Dichlormethan gelöst. Dichlormethan wird im Hochvakuum abkondensiert und der Rückstand in 5 ml Methanol aufgenommen. 1,25 g ( $\alpha$ S)-Folsäuredimethylester-benzolsulfonat gemäss Beispiel A1a (2 mmol) werden in 25 ml Methanol suspendiert und zum Katalysator gegeben. Die Suspension wird im Stickstoffgegenstrom in einen 100 ml Autoklaven gegeben und während 17 Stunden hydriert. Das Verhältnis der Diastereomeren (6S, $\alpha$ S):(6R, $\alpha$ S) beträgt 34:66.

## B) Herstellungs- und Anreicherungsverfahren

Beispiel B1: Herstellung und Isolierung von (6S, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat

### a) Veresterung von (6S, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäure

20 g einer äquimolaren Mischung von (6S, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäure (44,9 mmol) werden in 900 ml Methanol mit 10,65 g Benzolsulfonsäure (67,35 mmol) versetzt und

7 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Die klare Lösung wird auf Raumtemperatur abgekühlt und über Nacht gerührt. Der abgeschiedene Feststoff wird abgesaugt, mit Methanol und tert.-Butylmethylether gewaschen und bei 30 °C und 10 mbar getrocknet. Man erhält 9,62 g farblores kristallines Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat (15,24 mmol) mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 97,3 %.

b) Isolierung von (6S,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat

4 g (6,34 mmol) des so erhaltenen Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonates mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 97,3 % werden in 220 ml siedendem Methanol gelöst. Man lässt auf Raumtemperatur abkühlen, lässt über Nacht stehen und saugt den abgeschiedenen Feststoff ab. Man wäscht mit Methanol und tert.-Butylmethylether und trocknet bei 35 °C und 10 mbar. Man erhält 3,08 g (4,88 mmol) farblores kristallines Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 99,5 %.

Beispiel B2: Herstellung und Isolierung von (6S,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat

5,31 g Tetrahydrofolsäure (11,92 mmol) mit einem Diastereomerenverhältnis von (6S,αS):(6R,αS) = 70:30 (hergestellt nach EP 0 495 204 B1) werden in 230 ml Methanol mit 2,83 g Benzolsulfonsäure (17,88 mmol) 7 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Man lässt auf Raumtemperatur abkühlen und impft die Lösung bei 60°C mit diastereomerenreinem (6S,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat an. Nach Stehen über Nacht saugt man den abgeschiedenen Feststoff ab, wäscht mit Methanol und tert.-Butylmethylether und trocknet bei 35 °C und 10 mbar. Man erhält 3,46 g (5,48 mmol) Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 99.9%.

Beispiel B3: Herstellung und Isolierung von (6S,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat

10 g einer äquimolaren Mischung von (6S,αS)- und (6R,αS)-Tetrahydrofolsäure (22,45 mmol) werden in 450 ml Methanol mit 6,41 g Toluolsulfonsäure-monohydrat (33,67 mmol) versetzt und 7 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Die klare Lösung wird auf Raumtemperatur abgekühlt und über Nacht gerührt. Der abgeschiedene Feststoff wird abgesaugt, mit Methanol und tert.-Butylmethylether gewaschen und bei 30 °C und 10 mbar getrocknet.

Man erhält 5,53 g farblores kristallines Tetrahydrofolsäuredimethylester-toluolsulfonat (9,54 mmol) mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 97,4 %.

5,2 g (8,97 mmol) des so erhaltenen Tetrahydrofolsäuredimethylester-toluolsulfonates mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 97,4 % werden in 182 ml siedendem Methanol gelöst. Man lässt auf Raumtemperatur abkühlen, rührt drei Stunden bei Raumtemperatur und saugt den abgeschiedenen Feststoff ab. Man wäscht mit Methanol und tert.-Butylmethylether und trocknet bei 35 °C und 10 mbar. Man erhält 4,43 g (7,64 mmol) farblores kristallines Tetrahydrofolsäuredimethylester-toluolsulfonat mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 99,8 %.

Beispiel B4: Herstellung und Isolierung von (6S,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat

3 g einer äquimolaren Mischung von (6S,αS)- und (6R,αS)-Tetrahydrofolsäure (6,73 mmol) werden in 130 ml Methanol mit 2,33 g Naphthalin-1-sulfonsäurenatriumsalz (10,1 mmol) und 4,7 ml 2 M HCl versetzt und 7 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Die klare Lösung wird auf Raumtemperatur abgekühlt und über Nacht gerührt. Der abgeschiedene Feststoff wird abgesaugt und bei 30 °C und 10 mbar getrocknet. Man erhält 0,34 g farblores Tetrahydrofolsäuredimethylester-naphthalin-1-sulfonat (0,55 mmol) mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 62,7 %.

Beispiel B5: Herstellung und Isolierung von (6S,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat

a) Herstellung von (6S,αS)- und (6R,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonates

~~Die gemäss Beispiel A1b erhaltene Lösung von Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat~~ mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 74 % wird unter Ausschluss von Sauerstoff auf 1/6 des Volumens eingengt. Die so erhaltene Suspension wird unter Stickstoffatmosphäre für 2 Stunden bei 4 °C gelagert, das abgeschiedene Produkt wird abgesaugt, mit wenig kaltem Methanol gewaschen und bei 40 °C und 20 mbar getrocknet. Man erhält 0,55 g Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat (0,87 mmol, 44 % der theoretischen Ausbeute). Das Verhältnis der Diastereomeren des Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonates (6S,αS):(6R,αS) beträgt 99:1.  $[\alpha]_{589} = -69,8^\circ$  ( $c = 1$  in Dimethylsulfoxid).

Die Substanz zersetzt sich oberhalb von 150 °C.

<sup>1</sup>H-NMR in DMSO-d<sub>6</sub>: 10.61 (1 H, bs), 8.35 (1H, d), 7.6-7.74 (m), 7.51 (1H, bs), 7.30-7.37 (m), 6.70 (2H, d, 2H, bs), 4.42 (2H, m), 3.63 (3H, s), 3.58 (3H, s), 3.50 (1H, m), 3.38 (1H, m), 3.28 (1H, m), 2.44 (2H, m), 2.01-2.13 (2H, m)

b) Hydrolyse des Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonates:

0,55 g Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat (0,95 mmol) gemäss Beispiel B5a und 0,32 g Natriumcarbonat (3,02 mmol) werden unter Ausschluss von Sauerstoff in 4 ml Wasser gelöst. Man erhitzt auf 85 °C und stellt nach 30 Minuten den pH-Wert mit 37 %iger Salzsäure auf pH = 7,5 ein. Bei 75 °C werden 0,2 g Benzolsulfonsäure in 0,6 ml Wasser zugegeben und anschliessend wird der pH-Wert mit 37 %iger Salzsäure auf pH = 0,8 eingestellt. Man lässt die Lösung auf Raumtemperatur abkühlen und rührt noch drei Stunden. Das Produkt wird abgenutscht und im Trockenschrank bei 30 °C und 20 mbar 4 Tage lang getrocknet. Man erhält 8,4 g Tetrahydrofolsäure-benzolsulfonat (13,92 mmol, 88 % der theoretischen Ausbeute).

Das Diastereomerenverhältnis des Tetrahydrofolsäure-benzolsulfonates (6S,αS):(6R,αS) beträgt 99:1.

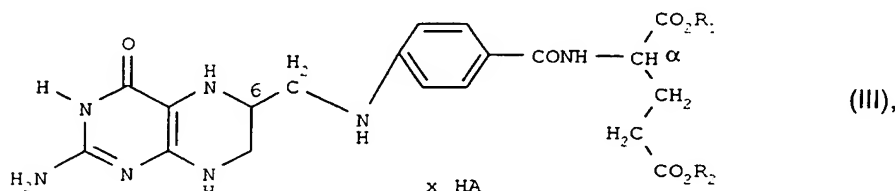
Die Eigenschaften des Tetrahydrofolsäure-benzolsulfonates sind mit denen des in EP 0495204 B1 beschriebenen Produktes identisch.

Beispiel B6: Herstellung und Isolierung von (6S,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat aus der Lösung gemäss Beispiel A1c

Die gemäss Beispiel A1c erhaltene Lösung von Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 34 % wird unter Ausschluss von Sauerstoff unter Stickstoffatmosphäre für 2 Stunden bei 4 °C gelagert. Danach wird das abgeschiedene Produkt abgesaugt, mit wenig kaltem Methanol gewaschen und dann bei 40 °C und 20 mbar getrocknet. Man erhält 0,2 g Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 96,6 %.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung und Anreicherung von (6S, $\alpha$ S)- oder (6S, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäureestersalzen und -Tetrahydrofolsäure, dadurch gekennzeichnet, dass man in organischen Lösungsmitteln äquimolare oder angereicherte Mischungen von Diastereomeren von Additionssalzen von Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren herstellt oder löst, anschliessend wenigstens einmal kristallisiert, und dann das Kristallisat gegebenenfalls zu (6S, $\alpha$ S)- oder (6S, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäure hydrolysiert, diese als freie Säure kristallisiert oder in Form eines Salzes isoliert.
2. Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Additionssalze der Tetrahydrofolsäureester der Formel III entsprechen, die die (6S, $\alpha$ S)-, (6S, $\alpha$ R)-, (6R, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ R)-Diastereomeren umfasst,



worin  $R_1$  oder  $R_2$  H sind, und eines von  $R_1$  oder  $R_2$ , oder beide  $R_1$  und  $R_2$  einen monovalenten Kohlenwasserstoffrest oder einen über ein C-Atom gebundenen Heterokohlenwasserstoffrest mit Heteroatomen ausgewählt aus der Gruppe -O-, -S- und -N- darstellen, HA für eine aromatische Sulfonsäure steht,

~~und x eine ganze Zahl von 1 bis 6 oder eine gebrochene Zahl zwischen 0 bis 6 bedeutet~~

- 3 Verfahren gemäss Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass  $R_1$  und  $R_2$  C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl bedeutet.
4. Verfahren gemäss Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass  $R_1$  und  $R_2$  für Methyl stehen.
5. Verfahren gemäss Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass x in Formel III für die Zahlen 1 oder 2, oder eine gebrochene Zahl zwischen 0,5 und 2 steht.

6. Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die aromatischen Sulfonsäuren der Formel IV entsprechen,



(IV),

worin  $R_3$  unsubstituiertes oder mit  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl,  $C_1$ - $C_4$ -Halogenalkyl oder  $C_1$ - $C_4$ -Alkoxy substituiertes Phenyl darstellt.

7. Verfahren gemäss Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die aromatische Sulfonsäure Benzol- oder 4-Toluolsulfonsäure ist.

8. Verfahren gemäss Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass in den Verbindungen der Formel III  $R_1$  und  $R_2$  je Methyl darstellen, x für 1 oder 2 oder für eine gebrochene Zahl zwischen 0,5 und 2 steht, und HA Phenyl-, Toluyl-, Fluor-, Chlor- oder Trifluormethylphenyl bedeutet.

9. Verfahren gemäss Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass in den Verbindungen der Formel III  $R_1$  und  $R_2$  je Methyl darstellen, x für 1 oder 2 oder für eine gebrochene Zahl zwischen 0,5 und 2 steht, und HA Phenyl- oder p-Toluylsulfonsäure bedeutet.

10. Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Mischungen das (6S, $\alpha$ S)- beziehungsweise (6S, $\alpha$ R)-Diastereomere in einer Menge von wenigstens 5 Gewichtsprozent oder mehr enthalten.

---

11. Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den organischen Lösungsmitteln um polare organische Lösungsmittel handelt, die wenigstens 1 g Additionssalz eines Tetrahydrofolsäureesters pro Liter Lösungsmittel bei Siedetemperatur lösen.

12. Verfahren gemäss Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass man Alkohole oder Mischungen aus Alkoholen mit wenigstens einem weiteren alkoholmischbaren Lösungsmittel verwendet.

13. Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man äquimolare oder angereicherte Mischungen von Diastereomeren von Additionssalzen aus Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren mit einem Lösungsmittel mischt und anschliessend das Gemisch zur Lösung der Additionssalze von Tetrahydrofolsäureestern und aromatischen Sulfonsäuren erwärmt, danach die Lösung abkühlt, wobei das (6S,αS)- oder (6S,αR)-Diastereomere auskristallisiert oder beide Diastereomeren auskristallisieren, und dann mittels Filtration abtrennt.

14. Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man Reaktionslösungen aus der Hydrierung von Folsäureestern, oder aus der Hydrierung von Additionssalzen von Folsäureestern und aromatischen Sulfonsäuren, oder aus der Hydrierung von Folsäure in Gegenwart von Sulfonsäuren unter veresternden Bedingungen verwendet.

15. Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man (6S,αS)- oder (6S,αR)-Tetrahydrofolsäureester-Sulfonate oder deren Gemische zu (6S,αS)- oder (6S,αR)-Tetrahydrofolsäure oder deren Gemische basisch hydrolysiert.



Zusammenfassung

Verfahren zur Herstellung und Anreicherung von (6S,αS)- oder (6S,αR)-Tetrahydrofolsäureestersalzen und -Tetrahydrofolsäure, dadurch gekennzeichnet, dass man in organischen Lösungsmitteln äquimolare oder angereicherte Mischungen von Diastereomeren von Additionssalzen von Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren herstellt oder löst, anschliessend wenigstens einmal kristallisiert, und dann das Kristallisat gegebenenfalls zu (6S,αS)- oder (6S,αR)-Tetrahydrofolsäure hydrolysiert, diese als freie Säure kristallisiert oder in Form eines Salzes isoliert.

---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**